

課題名 (タイトル) :

## MD シミュレーションによるタンパク質凝集に関する温度・濃度依存性解析

利用者氏名 : ○小須田 慧司

所属 : 神戸研究所 生命システム研究センター 生命モデリングコア 計算分子設計研究グループ

## 1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

蛋白質の凝集には、蛋白質を構成するアミノ酸の性質や、蛋白質濃度、塩濃度などさまざまな要素が関与していると考えられているが、それらの定量的な関係や、蛋白質の詳しい凝集形成過程は明らかにされていない。先行研究において、ペプチドを構成するアミノ酸の種類の違いが凝集に及ぼす影響を分子動力学 (MD) シミュレーションによって解析した。このとき、イソロイシンやバリンのような疎水性でかつ側鎖の大きな分子には強い凝集が見られたが、側鎖の小さな疎水性アミノ酸であるアラニンには大きな凝集体は見られなかった。イソロイシンやバリンではシミュレーション初期に多量体 (クラスター) を形成し、その後巨大な凝集体を形成することから、初期のクラスター形成がその後の凝集に深く関与すると予想した。本研究では、ペプチド濃度を変えて MD シミュレーションすることで、クラスター形成と凝集との関係を解析した。

## 2. 具体的な利用内容、計算方法

同一のアミノ酸 4 残基で構成されるペプチドのモデルを作成した。用いたアミノ酸は、疎水性のアミノ酸であるイソロイシン (Ile)、アラニン (Ala) である。側鎖の違いによる結果を詳細に解析するため、全てのモデルペプチドにおいて、C 末端を N-メチル化、N 末端をアセチル化し、主鎖電荷の影響をなくした。各モデルペプチドにおけるシミュレーションの初期構造は、系の大きさが 1 辺約 104 Å の立方体の内に同一のモデルペプチドを配置した。配置したペプチドの数は、イソロイシンは 9 個 (13 mM) と 27 個 (40 mM)、アラニンは 27 個 (40 mM) と 81 個 (120 mM) である。約 30,000 個の水分子で系を満たした。

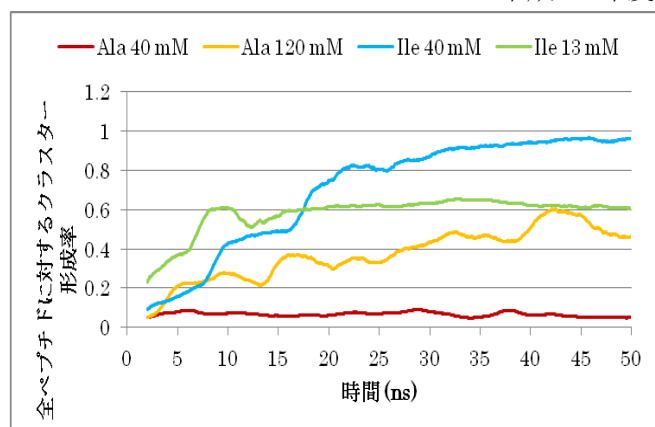
計算は分子動力学シミュレーションソフトウェ

アパッケージ Amber 8.0 を使い、理化学研究所の MD-GRAPE3 を使用することにより高速化が可能となった。気圧 1 atom、温度 273K, 300 K の条件を設定し、全モデルで 50 ナノ秒行った。0.01 ナノ秒ごとに出力される座標データやエネルギーデータから解析を行った。また、ペプチドの凝集性を評価するために、各ペプチド間の最も近い原子ペアの距離が互いの原子の van der Waals 半径の和以内にあるペプチドをクラスターと定義した。

## 3. 結果

各時間において、平均クラスターサイズ (クラスターを形成しているペプチドの数) の全ペプチド数における割合をグラフ化 (図 1) した。イソロイシン 40 mM がもっともクラスター形成率が高く、30 ns 以降、ほとんどのペプチドがクラスターを形成した。一方で、イソロイシン 13 mM は早い段階から半分以上のペプチドがクラスターを形成したが、全てのペプチドが凝集することはなく、20 ns 以降もクラスターの形成率は 60% 程度から変わらなかった。アラニン 40 mM はほとんどクラスターを形成しなかった。一方で、アラニン 120 mM は 50 ns までクラスター形成率が変化し続けた。

以上のことから、イソロイシンは低ペプチド濃度においてもクラスターを形成するのに対して、アラニンは非常にクラスターを形成しにくい、高ペプチド濃度下ではクラスターを形成することがわかった。また、アラニンのクラスター形成はイソロイシンより遅いが、時間経過に従ってクラスター形成率を増していくことがわかった。さらに、低ペプチド濃度におけるイソロイシンのクラスター形成率は 60% が上限であり、小さなクラスターではクラスター形成能が低いことが示唆された。



温度変化による解析は、シミュレーションデータが不足しているため、今回は報告しない。

#### 4. まとめ

シミュレーションを用いて、アミノ酸の違いによるクラスター形成の違いを分子レベルで観察できた。本研究によって、蛋白質が凝集する条件の解明や、凝集抑制に応用できると考える。

#### 5. 今後の計画・展望

系の温度が凝集に与える影響を引き続き解析していきたい。また、本研究ではクラスターサイズのみ議論したが、静電エネルギーやファンデルワールスエネルギーなど、エネルギーの影響を踏まえた解析を進めることが有効であると考えられる。また、今後はペプチド濃度だけでなく塩濃度や系の大きさを変えるなどして、より広範な凝集機構の解明を目指したい。